



RECD 28 NOV 2003  
WIPO PCT

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ - CERTIFICAT D'ADDITION

### COPIE OFFICIELLE

Le Directeur général de l'Institut national de la propriété industrielle certifie que le document ci-annexé est la copie certifiée conforme d'une demande de titre de propriété industrielle déposée à l'Institut.

Fait à Paris, le 25 SEP. 2003

Pour le Directeur général de l'Institut  
national de la propriété industrielle  
Le Chef du Département des brevets

Martine PLANCHE

#### DOCUMENT DE PRIORITÉ

PRÉSENTÉ OU TRANSMIS  
CONFORMÉMENT À LA  
RÈGLE 17.1.a) OU b)

BEST AVAILABLE COPY



INSTITUT NATIONAL DE  
LA PROPRIÉTÉ INTELLECTUELLE  
bis, rue de Saint Pétersbourg  
75013 PARIS CEDEX 08

télephone : 33 (1) 53 04 53 04 Télecopie : 33 (1) 42 94 86 54

REMISE DES PIÈCES

DATE

JEU 13 SEPT 2002

75 INPI PARIS B

Y° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

DATE DE DÉPÔT ATTRIBUÉE

PAR L'INPI

Vos références pour ce dossier

(facultatif) 240057 D20622 NT  
Confirmation d'un dépôt par télecopie

Réserve à l'INPI

BREVET D'INVENTION  
CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - L

cenja  
N° 11354\*02

REQUÊTE EN DÉLIVRANCE  
page 1/2

00 540 W / 01001

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

1 NOM ET ADRESSE DU DEMANDEUR OU DU MANDATAIRE  
A QUI LA CORRESPONDANCE DOIT ÊTRE ADRESSÉE

Cabinet REGIMBEAU  
20, rue de Chazelles  
75847 PARIS CEDEX 17  
FRANCE

2 NATURE DE LA DEMANDE

Demande de brevet  
Demande de certificat d'utilité

Demande divisionnaire

Demande de brevet initiale

ou demande de certificat d'utilité initiale

Transformation d'une demande de  
brevet européen Demande de brevet initiale

N° attribué par l'INPI à la télecopie

Cochez l'une des 4 cases suivantes

Date

Date

Date

Date

3 TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)

UTILISATION D'UN ANTICORPS INDUISANT LA SECRÉTION DE CYTOKINES EN THERAPIE.

4 DÉCLARATION DE PRIORITÉ

OU REQUÊTE DU BÉNÉFICE DE  
LA DATE DE DÉPÔT D'UNE  
DEMANDE ANTÉRIEURE FRANÇAISE

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

Pays ou organisation

Date

N°

S'il y a d'autres priorités, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

Personne morale

Personne physique

5 DEMANDEUR (Cochez l'une des 2 cases)

Nom  
ou dénomination sociale

Prénoms

Forme juridique

N° SIREN

Code APE-NAF

Domicile  
ou  
siège

Rue

Code postal et ville

Pays

Nationalité

N° de téléphone (facultatif)

Adresse électronique (facultatif)

LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES  
BIOTECHNOLOGIES

GROUPEMENT D'INTERET PUBLIC

180036147

Zone d'activité de Courtabœuf - 3, avenue des Tropiques 91940 LES ULIS

FRANCE

Française

N° de télecopie (facultatif)

S'il y a plus d'un demandeur, cochez la case et utilisez l'imprimé «Suite»

Remplir impérativement la 2<sup>me</sup> page

**BREVET D'INVENTION**  
**CERTIFICAT D'UTILISATION**

**REQUÊTE EN DÉLIVRANCE**  
page 2/2

**BR2**

REMISE DES PIÈCES

DATE

LIEU 13 SEPT 2002

75 INPI PARIS B

N° D'ENREGISTREMENT

NATIONAL ATTRIBUÉ PAR L'INPI

Réserve à l'INPI

0211415

DR 510 2 / 010831

Vos références pour ce dossier :  
(facultatif)

240057 NT

**1. MANDATAIRE (si il y a lieu)**

Nom

Prénom

Cabinet ou Société

N° de pouvoir permanent et/ou  
de lien contractuel

Cabinet REGIMBEAU

Rue

20, rue de Chazelles

Adresse

Code postal et ville

75847 PARIS CEDEX 17

Pays

01 44 29 35 00

N° de téléphone (facultatif)

01 44 29 35 99

N° de télexcopie (facultatif)

info@regimbeau.fr

Adresse électronique (facultatif)

**2. INVENTEUR (S)**

Les inventeurs sont nécessairement des personnes physiques

Oui

Non : Dans ce cas remplir le formulaire de Désignation d'inventeur(s)

**3. RAPPORT DE RECHERCHE**

Uniquement pour une demande de brevet ty (cas de division et transfert)

Établissement immédiat  
ou établissement différé

Paiement échelonné de la redevance  
(en deux versements)

Uniquement pour les personnes physiques effectuant elles-mêmes leur propre dépôt

Oui

Non

**4. RÉDUCTION DU TAUX  
DES REDEVANCES**

Uniquement pour les personnes physiques

Requise pour la première fois pour cette invention (joindre un avis de non-imposition)

Obtenue antérieurement à ce dépôt pour cette invention (joindre une copie de la  
décision d'admission à l'assistance gratuite ou indiquer sa référence) : AG

Si vous avez utilisé l'imprimé «Suite»,  
indiquez le nombre de pages jointes

**VISA DE LA PRÉFECTURE**

OU DE L'INPI

**5. SIGNATURE DU DEMANDEUR  
OU DU MANDATAIRE**  
(Nom et qualité du signataire)

92-1001

5 La présente invention concerne l'utilisation d'un anticorps pour la fabrication d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule effectrice appartenant au système immunitaire, ledit anticorps étant caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé de sélection comprenant une mise en contact de cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées 10 ou non, dans un milieu réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.

L'immunothérapie à l'aide d'anticorps polyclonaux ou monoclonaux est en passe de 15 devenir un des aspect les plus importants de la médecine. En revanche, les résultats obtenus lors d'essais cliniques apparaissent contrastés. En effet, il peut s'avérer que l'anticorps monoclonal ne soit pas suffisamment efficace. Aujourd'hui, la recherche s'oriente sur le fragment Fcγ de l'immunoglobuline afin d'améliorer les propriétés des anticorps. A terme, cela devrait permettre l'obtention d'anticorps qui interagissent et 20 activent les récepteurs des cellules effectrices (macrophage, lymphocyte T, H et NK).

La fixation d'un anticorps sur son ligand peut induire une activation de certaines cellules effectrices via leurs récepteurs Fc. Une des conséquences de l'activation des cellules est non seulement l'induction de propriétés fonctionnelles, comme l'ADCC ou 25 l'activation du complément, mais aussi la production de cytokines. Ces cytokines, produites au site d'activation des effecteurs, peuvent exercer différentes activités biologiques.

Or, dans le cadre de l'invention, on a trouvé que l'activation les récepteurs des cellules 30 effectrices produits des réponses très différentes conduisant à la libération d'une ou

plusieurs cytokines. Ces cytokines sont responsables de l'activation ou de l'inhibition de certains composants du système immunitaire selon le cas.

Ainsi, le problème est de savoir qu'elle est la capacité d'un anticorps donné à stimuler 5 la production de cytokines par les cellules effectrices et quelles sont les conséquences d'une telle activation en fonction de la nature des cytokines libérées.

Il peut s'avérer par exemple qu'un même anticorps dirigé contre un antigène donné soit complètement inefficace lors qu'il est produit dans des lignées de myélome de souris, 10 alors qu'il se montre très efficace lors qu'il est produit dans d'autres lignées cellulaires.

Ainsi, l'objectif est d'utiliser des anticorps qui ont été préalablement sélectionnés pour leur capacité à activer tels ou tels composants du système immunitaire, par exemple 15 l'ADCC ou au contraire qui sont incapables d'induire une réponse cytotoxique.

A cet effet, on a trouvé que la fixation d'un anticorps sur son ligand peut induire une activation de la cellule Jurkat transfectée CD16 induisant la sécrétion d'IL2. Une forte corrélation est observée entre la sécrétion d'IL2 par Jurkat CD16 et l'activité ADCC 20 médiée par le CD16 des cellules effectrices.

L'invention propose donc d'utilisation des anticorps sélectionnés par un test jurkat CD16 par mesure d'IL2 sécrétée ou d'autres cytokines, ce qui permet de garantir l'activité biologique desdits anticorps pour un usage thérapeutique.

25

#### Description

Ainsi, la présente invention se rapporte à l'utilisation d'un anticorps pour la fabrication 30 d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule

effectrice appartenant au système immunitaire, ledit anticorps étant caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé de sélection comprenant une mise en contact de cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées ou non, dans un milieu réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.

On entend par cellule transformée, une cellule modifiée génétiquement de sorte à exprimer un récepteur, en particulier le récepteur CD16.

10 De préférence, on utilise pour la sélection des anticorps une lignée Jurkat transfectée avec un vecteur d'expression codant pour le récepteur CD16 comme cellule effectrice. Cette lignée est particulièrement avantageuse car elle est immortalisée et se développe indéfiniment dans des milieux cultures.

15 Lesdites cytokines libérées sont des interleukines, des interférons et des facteurs de nécrose tissulaire (TNF).  
Ainsi, l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IL-9, IL-10, ... 20 TNFa et IFN $\gamma$  par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

De préférence, l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'IL-2 par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16. Le taux 25 d'interleukine IL2 sécrétée reflète la qualité de l'anticorps fixé par le récepteur CD16 quant à son intégrité (fonction FC) et à son efficacité (site antigénique) de liaison à l'antigène. La mesure du taux d'IL2 est corrélée à une activité du type ADCC.

En outre, l'anticorps peut être sélectionné après avoir été purifié.

La sélection peut se faire sur des anticorps produits par des cellules couramment utilisées pour la production d'anticorps thérapeutiques, telles que CHO, YB2/0, les cellules lymphoblastoides humaines, les cellules d'insectes et les cellules de myélomes murines. La sélection peut également être appliquée à l'évaluation aux anticorps 5 produits par des plantes transgéniques ou de mammifères transgéniques.

Dans un mode de réalisation particulier, l'anticorps sélectionné est capable d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages.

10 L'invention se rapporte également l'utilisation des anticorps sélectionnés décrits ci-dessus spécifiques d'un antigène qui provient d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme.

Cet anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal.

15 Par exemple, l'anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal de spécificité anti Rhésus du globule rouge humain.

L'anticorps selon l'invention peut également être un anticorps dirigé contre des virus pathogènes pour l'homme, contre des antigènes de tumeurs malignes ou contre les 20 antigènes d'une bactérie ou d'un parasite pathogène pour l'homme.

Avantageusement, l'anticorps sélectionné montre une augmentation supérieure à 100%, 250%, 500%, ou 1000% du taux de libération d'IL-2 par rapport au contrôle en absence d'anticorps ou en présence d'un anticorps donné comme référence négative.

25 Les procédés décrits ci-dessus peuvent éventuellement être réalisés en présence d'immunoglobulines humaines (IVIg).

Dans un aspect supplémentaire, l'invention vise l'utilisation desdits anticorps sélectionnés comme support thérapeutique en médecine humaine, notamment pour la

fabrication d'un médicament destiné au traitement des maladies autoimmunes, inflammatoires, des cancers et des infections par des agents pathogènes.

Dans un autre aspect, l'invention porte sur un kit permettant d'évaluer l'activité biologique d'un anticorps comprenant des moyens et des réactifs nécessaires pour le dosage d'au moins une cytokine, par exemple IL-2, IFN et/ou TNF, et des cellules effectrices exprimant un ou plusieurs récepteurs FcR, notamment le récepteur CD16.

**Légende**

10

**FIGURE 1 : Libération de cytokine (IL-2, IFN et TNF) de leucocytes induits par des anticorps en présence de leur cible.**

A- Schéma d'activation des leucocytes.  
 B- Les leucocytes ont été incubés avec différents anticorps en présence d'hématies.  
 15 Après une nuit d'incubation, la libération de TNFa et IFN? dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

**FIGURE 2 : Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)- 13/06/02**

A- Schéma d'activation des cellules NK.  
 B- Des cellules NK purifiées ont été mélangées avec différents anticorps anti-D en présence d'hématies rhésus +. Après une nuit d'incubation, la libération de TNFa et IFN? dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

**FIGURE 3 : Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)- 13/08/02**

Des cellules NK purifiées ont été mélangées avec différents anticorps anti-D en présence d'hématies rhésus +. Après une nuit d'incubation, la libération de TNFa et IFN? dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

30

**FIGURE 4 : Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par un anti-CD20**

A- Schéma d'activation de cellule Jurkat.  
B- Des cellules Jurkat CD16 ont été mélangées avec différents anticorps anti-CD20 en  
5 présence d'hématies rhésus + et de PMA. Après une nuit d'incubation, la libération  
d'IL-2 dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

**FIGURE 5 : Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par un anti-D**

A- Schéma d'activation de cellule Jurkat.  
B- Des cellules Jurkat CD16 ont été mélangées avec différents anticorps anti-D en  
10 présence d'hématies rhésus + et de PMA. Après une nuit d'incubation, la libération  
d'IL-2 dans le surnageant a été quantifiée par ELISA.

**Exemple 1 : Test Jurkat CD16**

15

**Anticorps témoins :**

Anticorps polyclonaux WinRho, anticorps monoclonal DF5-EBV, anticorps  
monoclonal DF5-YB2/0

20 **Principe :**

Ce test estime la capacité des anticorps anti-D à se fixer sur le récepteur CD16 (Fc  
gamma RIII) exprimé sur les cellules Jurkat CD16 et à induire la sécrétion d'IL2.

Ce test consiste à mettre en contact en P96 : les anticorps anti-D, les hématies Rhésus  
positives traitées à la papaine, les cellules Jurkat CD16 et du PMA.

25 Après une nuit d'incubation à 37°C, on centrifuge les P96 et on dose dans le  
surnageant la quantité d'IL2 secrétée.

**Mode opératoire****Matériel**

Anticorps témoins positif : Poly-D WinRho, DF5 YB2/0.

---

30 Anticorps témoins négatifs : DF5

Hématies Rhésus positif

Cellules Jurkat CD16

Kit dosage IL2 : Quantikine de chez R/D.

Méthode

5 Traitement à la papaïne des hématies.  
1ml de culot d'hématies incubé avec 1ml d'une solution de papaïne (1mg/ml) diluées en PBS incubé 10mn à 37°C. Puis 3 lavages en H2O-NaCl 0.15M.

Mélange réactionnel :

10 -Anticorps : 50µl d'une dilution à 150ng/ml en IMDM 5% SVF  
-PMA 50µl d'une dilution à 40ng/ml en IMDM 5% SVF  
-Hématies traitées à la papaïne. 50µl à 8 106/ml en IMDM 5% SVF  
-Jurkat CD16. 50µl à 2x106/ml en IMDM 5% SVF  
Incubation 1 nuit à 37°C  
Puis centrifugation des plaques, prélèvement de 100µl de surnageants et dosage d'IL2  
15 avec le kit commercial. lecture à 450nm.

On donne les valeurs (en pg/ml) sous forme d'histogramme pour chaque échantillon.

**Exemple 2 : activation de cellules NK et production d'IL2 et d'IFN $\gamma$**

20 Modèle de mise au point : lignée cellulaire Jurkat transfectée avec le gène codant pour le récepteur CD16. Applications : renforcement d'une réponse anti-tumorale. L'IL2 induit une activation des lymphocytes T et des cellules NK pouvant aller jusqu'à une stimulation de la prolifération cellulaire. L'IFN $\gamma$  stimule l'activité des CTLs et peut renforcer l'activité des macrophages.

25 **Exemple 3 : activation de monocytes macrophages et production de TNF et d'IL-1Ra**

Applications : renforcement de la phagocytose et induction de propriétés anti-inflammatoires. Le TNF stimule la prolifération des macrophages et des lymphocytes infiltrant les tumeurs. L'IL-1Ra est une cytokine qui entre en compétition avec l'IL1 au niveau de son récepteur et exerce ainsi un effet anti-inflammatoire.

5

**Exemple 3 : activation de cellules dendritiques et production d'IL10**

Applications : induction d'une tolérance spécifique à certains antigènes. L'IL10 est une molécule inhibitrice de l'activation de différentes cellules effectrices et de la production de cytokines.

10

REVENDICATIONS

- 5 1. Utilisation d'un anticorps pour la fabrication d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule effectrice appartenant au système immunitaire, ledit anticorps étant caractérisé en ce qu'il est obtenu par un procédé de sélection comprenant une mise en contact de cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées ou non, dans un milieu réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.
- 10 2. Utilisation selon la revendication 1, caractérisé en ce que le procédé de sélection est mis en œuvre avec une cellule Jurkat exprimant le récepteur CD16.
- 15 3. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interleukines.
- 20 4. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interférons.
- 25 5. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des facteurs de nécrose tissulaire (TNF).
6. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNFa et IFN? par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

REVENDICATIONS

5 1. Procédé de sélection d'un anticorps pour la fabrication d'un médicament destiné à induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule effectrice appartenant au système immunitaire, comprenant une mise en contact de cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16, transformées ou non, dans un milieu réactionnel en présence de l'anticorps à tester et de l'antigène dudit anticorps et 10 une mesure de la quantité d'au moins une cytokine produite par la cellule exprimant le récepteur CD16.

2. Procédé selon la revendication 1, caractérisé en ce qu'il est mis en œuvre avec une cellule Jurkat exprimant le récepteur CD16.

15 3. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des interleukines.

4. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines 20 libérées sont des interférons.

5. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que les cytokines libérées sont des facteurs de nécrose tissulaire (TNF).

25 6. Procédé selon l'une des revendications 1 à 2, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine choisie parmi IL-1, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, TNFa et IFN $\gamma$  par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

7. Utilisation selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'IL-2 par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

5 8. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que l'anticorps est sélectionné après avoir été purifié.

9. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'antigène provient d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme.

10 10. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné est capable d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages.

15 11. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal.

12. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps de spécificité anti Rhésus du globule rouge humain.

20 13. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des virus pathogènes pour l'homme.

25 14. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des antigènes de tumeurs malignes.

15. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre les antigènes d'une bactérie ou d'un parasite pathogène pour l'homme.

30

7. Procédé selon la revendication 1 ou 2, caractérisé en ce que ce que l'anticorps sélectionné a la capacité d'induire la sécrétion d'IL-2 par les cellules effectrices du système immunitaire exprimant le récepteur CD16.

5 8. Procédé selon l'une des revendications 1 à 7, caractérisé en ce que l'anticorps est sélectionné après avoir été purifié.

9. Procédé selon l'une des revendications 1 à 8, caractérisé en ce que l'antigène provient d'une cellule pathologique ou d'un organisme pathogène pour l'homme.

10 10. Procédé selon l'une des revendications 1 à 9, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné est capable d'induire la sécrétion d'au moins une cytokine par une cellule leucocytaire, en particulier de la famille des NK (natural killer) ou par des cellules du groupe monocytes-macrophages.

15 11. Procédé selon l'une des revendications 1 à 10, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps monoclonal ou polyclonal.

12. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps de spécificité anti Rhésus du globule rouge humain.

20 13. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des virus pathogènes pour l'homme.

25 14. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre des antigènes de tumeurs malignes.

15. Procédé selon l'une des revendications 1 à 11, caractérisé en ce que l'anticorps est un anticorps dirigé contre les antigènes d'une bactérie ou d'un parasite pathogène pour l'homme.

16. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné montre une augmentation supérieure à 100%, 250%, 500%, ou 1000% du taux de libération d'IL-2 par rapport au contrôle en absence d'anticorps ou en présence d'un anticorps donné comme référence négative.

5      17. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 16 comme support thérapeutique en médecine humaine.

10     18. Utilisation selon l'une des revendications 1 à 17 pour la fabrication d'un médicament destiné au traitement des maladies autoimmunes, inflammatoires, des cancers et des infections par des agents pathogènes.

15     19. Kit permettant d'évaluer l'activité biologique d'un anticorps comprenant des moyens et des réactifs nécessaires pour le dosage d'au moins une cytokine, notamment IL-2, IFN et TNF, et des cellules effectrices exprimant le récepteur CD16.

16. Procédé selon l'une des revendications 1 à 15, caractérisé en ce que l'anticorps sélectionné montre une augmentation supérieure à 100%, 250%, 500%, ou 1000% du taux de libération d'IL-2 par rapport au contrôle en absence d'anticorps ou en présence 5 d'un anticorps donné comme référence négative.

17. Procédé selon l'une des revendications 1 à 16 dans lequel l'anticorps sélectionné est utile comme support thérapeutique en médecine humaine.

10 18. Procédé selon l'une des revendications 1 à 17 dans lequel l'anticorps sélectionné est destiné à la fabrication d'un médicament pour le traitement des maladies autoimmunes, inflammatoires, des cancers et des infections par des agents pathogènes.

15 19. Kit permettant d'évaluer l'activité biologique d'un anticorps comprenant des moyens et des réactifs nécessaires et des cellules effectrices exprimant le récepteur CD16 pour la mise en mise du procédé selon l'une des revendications 1 à 18 permettant le dosage d'au moins une cytokine, notamment IL-2, IFN et TNF.

## Activation de leucocytes par des anti-D

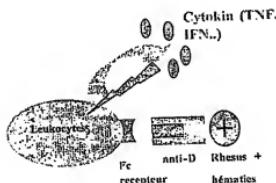


FIGURE 1A

Libération de cytokine ( IL2, IFN et TNF) de leucocytes induite par des anticorps en présence de leur cible

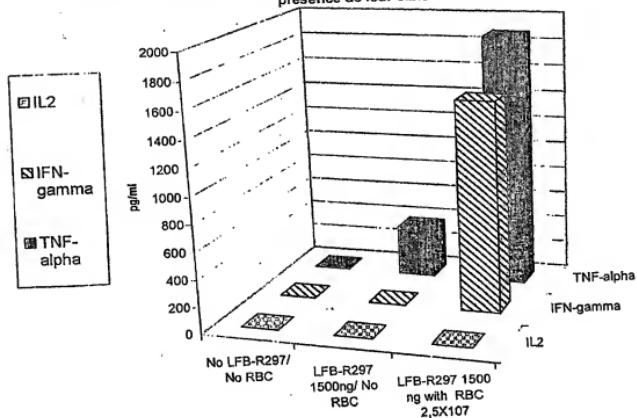


FIGURE 1B

Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)

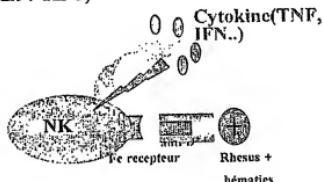


FIGURE 2A

Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible (LFB-R297-RBC)

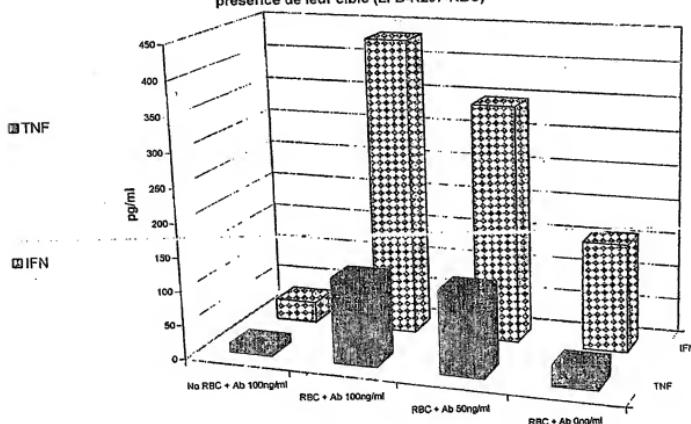


FIGURE 2B

Libération de cytokine (IFN, TNF) de cellules NK induites par des anticorps en présence de leur cible  
(LFB-R297-RBC) 13/08/02

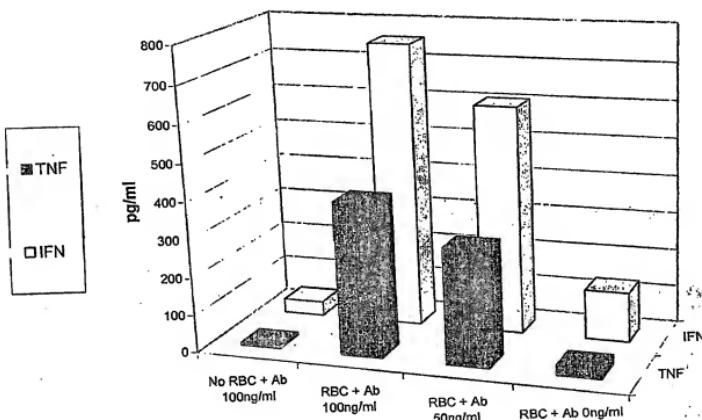


FIGURE 3

Libération d'IL2 de Jurkat CD 16  
induites par des anticorps anti-CD20

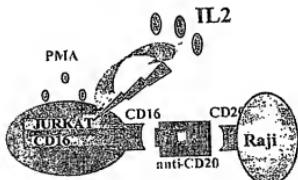


FIGURE 4A

Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par un anti-CD20

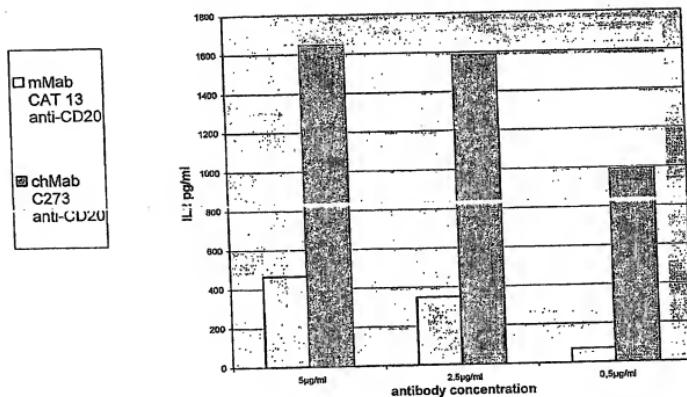


FIGURE 4B

Libération d'IL2 de Jurkat CD 16  
induites par des anticorps anti-D

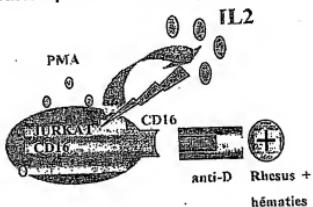


FIGURE 5A

Libération d'IL2 de Jurkat CD16 induites par anti-D

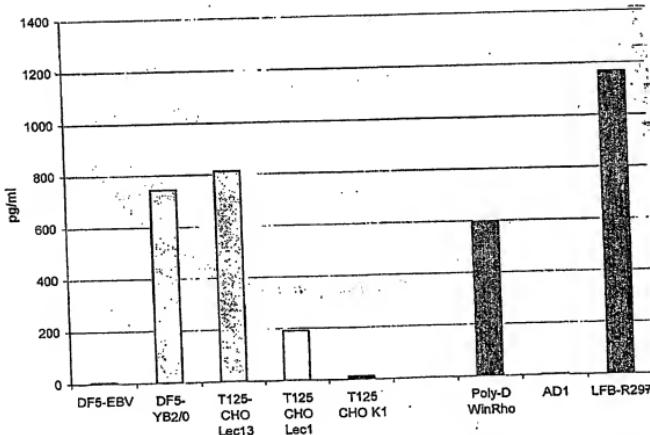


FIGURE 5B

**DÉPARTEMENT DES BREVETS**

26 bis, rue de Saint-Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

**DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S)** Page N° 1.../2...

(À fournir dans le cas où les demandeurs et  
les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 113 W / 270601

<b>Vos références pour ce dossier (facultatif)</b>		240057 NT
<b>N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL</b>		0211415
<b>TITRE DE L'INVENTION</b> (200 caractères ou espaces maximum)		
UTILISATION D'UN ANTICORPS INDUISANT LA SECRÉTION DE CYTOKINES EN THERAPIE.		
<b>LE(S) DEMANDEUR(S) :</b>		
LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACITIONNEMENT ET DÈS BIOTECHNOLOGIES : Zone d'activité de Courtabœuf - 3, avenue des Tropiques 91940 LES ULIS - FRANCE		
<b>DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :</b>		
<b>1</b> Nom		de ROMEUP Christophe
Prénoms		
Adresse	Rue	116, rue de la Bassée
Code postal et ville		59000 LILLE FR
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>2</b> Nom		GAUCHER Christine
Prénoms		
Adresse	Rue	32, rue des Mésanges
Code postal et ville		59820 SEQUEDIN FR
Société d'appartenance (facultatif)		
<b>3</b> Nom		GLACET Arnaud
Prénoms		
Adresse	Rue	46 rue Ringot
Code postal et ville		59147 GONDECOURT FR
Société d'appartenance (facultatif)		
S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.		
<b>DATE ET SIGNATURE(S)</b>		
<b>DU (DES) DEMANDEUR(S)</b>		
<b>OU DU MANDATAIRE</b>		
(Nom et qualité du signataire)		
<p><i>Nant</i> 32.11.63</p>		

# BREVET D'INVENTION

## CERTIFICAT D'UTILITÉ

Code de la propriété intellectuelle - Livre VI

cerfa  
N° 11235\*03

### DÉPARTEMENT DES BREVETS

26 bis, rue de Saint Pétersbourg  
75800 Paris Cedex 08  
Téléphone : 33 (1) 53 04 53 04 Télécopie : 33 (1) 42 94 86 54

DÉSIGNATION D'INVENTEUR(S) Page N° 2 / 2

(À fournir dans le cas où les demandeurs et  
les inventeurs ne sont pas les mêmes personnes)

Cet imprimé est à remplir lisiblement à l'encre noire

DB 133 W / 270601

Vos références pour ce dossier (facultatif)	
N° D'ENREGISTREMENT NATIONAL	
TITRE DE L'INVENTION (200 caractères ou espaces maximum)	
0211415	
UTILISATION D'UN ANTICORPS INDUISANT LA SECRÉTION DE CYTOKINES EN THERAPIE.	

### LE(S) DEMANDEUR(S) :

LABORATOIRE FRANCAIS DU FRACTIONNEMENT ET DES BIOTECHNOLOGIES : Zone d'activité de Courtabœuf -  
avenue des Tropiques 91940 LES ULIS - FRANCE

### DESIGNE(NT) EN TANT QU'INVENTEUR(S) :

<input checked="" type="checkbox"/>	Nom	
Prénoms		
Adresse	Rue	
	DHAINAUT Frédéric	
Code postal et ville		
14 Rue de Bourdon		
Société d'appartenance (facultatif)		91870 BOISSY LE SEC FR
<input checked="" type="checkbox"/>	Nom	
Prénoms		
Adresse	Rue	
	BOUREL Dominique	
Code postal et ville		
53 Avenue Germaine		
Société d'appartenance (facultatif)		50110 LA MADELEINE FR
<input checked="" type="checkbox"/>	Nom	
Prénoms		
Adresse	Rue	
Code postal et ville		
11111		
Société d'appartenance (facultatif)		

S'il y a plus de trois inventeurs, utilisez plusieurs formulaires. Indiquez en haut à droite le N° de la page suivi du nombre de pages.

### DATE ET SIGNATURE(S)

DU (DES) DEMANDEUR(S)

OU DU MANDATAIRE

(Nom et qualité du signataire)

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

### **BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.